

氏名	松井 英譲
授与した学位	博士
専攻分野の名称	農学
学位授与番号	博甲第3211号
学位授与の日付	平成18年 3月24日
学位授与の要件	自然科学研究科エネルギー転換科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	植物-病原菌相互作用における 12-oxophytodienoic acid reductase (OPR) の機能解析
論文審査委員	教授 一瀬 勇規 教授 白石 友紀 助教授 豊田 和弘

学位論文内容の要旨

エンドウとエンドウ褐紋病菌をモデル系として、植物防御応答の誘導と病原体による抵抗性打破の分子機構が解析された結果、エンドウ褐紋病菌の生産するサプレッサーはジャスモン酸(JA)合成経路の 12-oxophytodienoic acid reductase (OPR) と高い相同性を示す遺伝子 *S64* の発現を誘導することが判明している。*S64* の発現は、サプレッサー処理のみならず、病原菌であるエンドウ褐紋病菌接種、傷処理、乾燥処理、JA 処理、植物毒素コロナチン処理で誘導される。本研究では、植物の病原菌相互作用における OPR の機能を、OPR 遺伝子の構造と発現制御機構の解析、高発現体の作出によって解析した。まず、エンドウゲノム DNA ライブラリーから *S64* 遺伝子の単離を試み、5種の *S64* 相同遺伝子を単離し、それらを *PsOPR1* ~ *PsOPR5* と命名した。*PsOPR* 遺伝子群の塩基配列解析により、*S64* は *PsOPR2* に対応することが判明した。また、*PsOPR* 遺伝子群の cDNA の単離を試み、新たに *PsOPR6* を得た。*PsOPR1* ~ *PsOPR6* 遺伝子の発現を RT-PCR 法により解析した結果、上述の *PsOPR* 誘導条件下において、*PsOPR2*(*S64*) 遺伝子が最も主要な発現遺伝子であった。さらに、*PsOPR* 遺伝子群の各組換えタンパク質を精製し、*PsOPR1*, 2, 4, 6 は α,β -不飽和カルボニル化合物のモデル 2-cyclehexen-1-one を還元する強い酵素活性を有することが明らかとなった。次に、OPR の病原菌相互作用における機能を分子遺伝学的に解析するために、シロイヌナズナを用いた OPR の機能解析を試みた。*PsOPR2* のホモログである *AtOPR1*, *AtOPR2* の高発現体、JA 合成経路の鍵酵素である *AtOPR3* の高発現体を用いて、トマト斑点細菌病菌 *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 (*Pst* DC3000) に対する抵抗性、罹病性を解析した。その結果、*AtOPR1*, *AtOPR2* 高発現体の *Pst* DC3000 に対する罹病性は変化しなかったが、*AtOPR3* 高発現体では *LOX2* などの JA 応答性遺伝子群の転写活性化が遅延し、抵抗性が増高した。*Pst* DC3000 の感染戦略の1つとして JA 経路の活性化が必要であると考えられている。本結果は、*AtOPR3* 遺伝子の高発現による代謝変動が、*Pst* DC3000 による JA 経路の活性化を阻害し、結果として *Pst* DC3000 の感染効率低下を引き起こしたと考えられた。

論文審査結果の要旨

植物は大多数の病原菌に対し、非宿主抵抗性を発揮し感染を防いでいるが、一方、病原菌は特定の植物に対してはその抵抗性を打破する機能を獲得し、その植物を宿主として利用している。これまでに、エンドウ褐紋病菌の生産する病原性因子サプレッサーは宿主エンドウの 12-oxophytodienoic acid reductase (OPR) の遺伝子発現を誘導することが見出されている。本研究では病原菌の感染戦略を明らかにすることを最終目的とし、エンドウの *OPR* 遺伝子ファミリーの各メンバーを単離し、構造解析、発現解析、組換えタンパク質の機能解析を行った。その結果、6つの *PsOPR* 遺伝子のうち、*PsOPR2* が病原菌感染の場において最も強く発現する遺伝子であり、本遺伝子産物のモデル基質を強く還元することを見出した。また、このモデル基質は防御応答遺伝子の発現を誘導したことより、*PsOPR2* の機能が植物内生エリシターの不活化とそれに引き続く防御応答の抑制にあると考察した。論文の後半では *OPR* の解析基盤をモデル植物であるシロイヌナズナに移した。シロイヌナズナには3つの *OPR* 遺伝子が存在するが、親和性病原菌であるトマト斑葉細菌病菌 DC3000 (DC3000) の接種によりジャスモン酸 (JA) 合成系酵素の遺伝子である *AtOPR3* の発現が誘導されることを見出した。また、*AtOPR* の各高発現体を用いて病原菌応答を解析した結果、*AtOPR3* 高発現体では JA 合成系遺伝子の発現が低下・遅延し、DC3000 に対し抵抗性を示すことを見出した。申請者はこれらの結果から、*AtOPR3* 高発現体では JA 経路が弱まることにより、拮抗作用を示すサリチル酸 (SA) 依存性の防御応答が強くなったためと考察した。SA は DC3000 に対する効果的な防御シグナルとして知られている。この提唱には今後様々な角度からの検証が必要であるが、本研究は防御応答における植物脂質の重要性を明らかにし、病原菌が、植物の防御応答を錯乱させることによりコンディショニングを行っていることを示唆するものとして高く評価される。以上のことから、本論文は博士（農学）に値する論文であると判断した。